

**Máster Interuniversitario de Gestión de Suelos y Aguas.**

Universitat de Lleida – Universitat Autònoma de Barcelona – Universitat  
de Barcelona – Universidad Pública de Navarra

Trabajo Final de Máster

Tipo: Investigación.

**VALORIZACIÓN DEL ALPERUJO A TRAVÉS  
DEL SUELO.  
EVALUACIÓN COMO FERTILIZANTE.**

Autora: Nieves Sánchez Jiménez

Directores: Jordi Sierra, Esther Martí, M<sup>a</sup> Antonia Garau

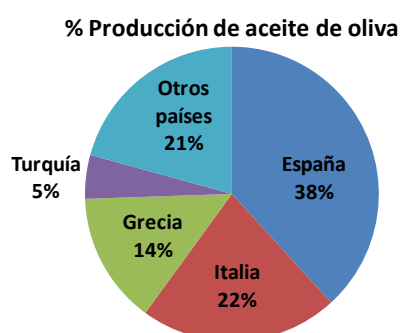
22/07/2015

## ÍNDICE.

1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. Sistemas de producción. ....	3
1.2. Características y gestión del alperujo. ....	4
1.3. Marco legal del alperujo.....	6
1.4. Objetivo del estudio. ....	7
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
2.1. Materiales. ....	8
2.2. Diseño experimental. ....	9
2.3. Métodos analíticos.....	10
2.4. Métodos estadísticos. ....	11
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
3.1. Evolución de los parámetros con el paso del tiempo de incubación.....	12
3.2. Estimación de una dosis recomendada de aplicación de alperujo en suelo.....	26
4. CONCLUSIONES. ....	30
5. BIBLIOGRAFÍA.....	32
ANEXO I .....	35
ANEXO II .....	36

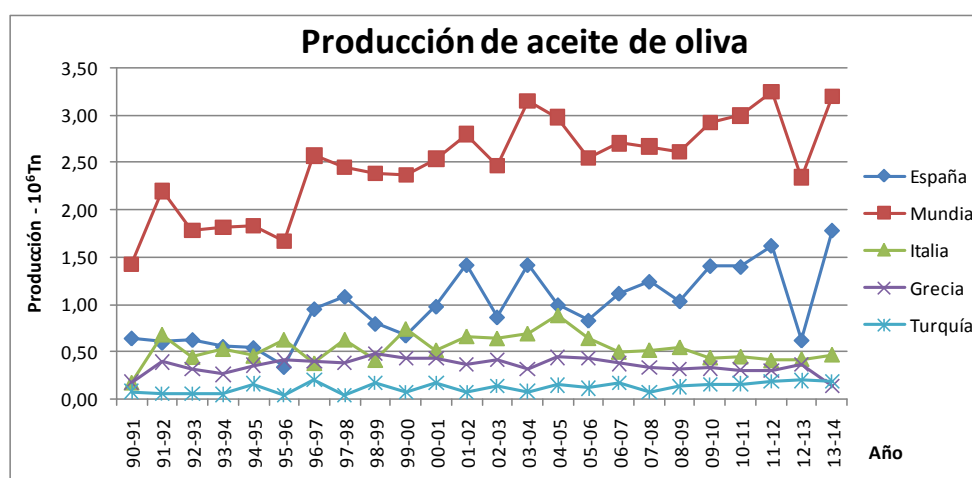
## 1. INTRODUCCIÓN.

El cultivo de olivar es propio de zonas con clima mediterráneo debido a la necesidad de este tipo de cultivo de veranos cálidos y secos y de inviernos suaves (*Gremi d'industrials oliaires de Catalunya, 2015*). Países tales como Italia, Grecia o Turquía, los cuales pueden satisfacer las necesidades de este cultivo, son los que abarcan la mayor parte de la producción anual de aceite de oliva (Figura 1). No obstante, España es el productor por excelencia, llegando a alcanzar casi el 40% de la producción mundial (*Roig et al., 2005; International Olive Council, 2015*).



**Figura 1. Porcentaje de aceite de oliva en los países más productivos. Media del porcentaje de producción anual desde 1990 hasta 2014. Fuente: elaboración propia a partir de los datos adquiridos desde *International Olive Council* (2015).**

Tanto en España como en el resto de países la producción de aceite de oliva está sufriendo un aumento desde la década de los 90 (Figura 2) (*Alburquerque et al., 2003*). Actualmente, en España se producen de media 1,6 millones de toneladas al año (*International Olive Council, 2015*). Esta cifra puede traducirse en, aproximadamente, 8 millones de toneladas de residuos al año (*Sierra, 2003*). Tal cantidad de residuos necesita una salida que garantice la seguridad ecológica y la sostenibilidad del proceso.



**Figura 2. Evolución de la producción de aceite de oliva ( $10^6 \text{Mg} \cdot \text{año}^{-1}$ ) en los países más productivos. Fuente: elaboración propia a partir de los datos adquiridos desde el *International Olive Council* (2015).**

En lo referente a Cataluña, sólo se alcanza aproximadamente el 1,34 % de la producción de aceite a nivel mundial (*International Olive Council, 2015*). Esta cifra puede parecer poco importante, sin embargo en Cataluña el cultivo de olivar es el cultivo no herbáceo con mayor extensión. Éste supera las 100.000 ha sobre un total de 273.293 ha, según el censo agrario del año 2009 (*IDESCAT, 2009*). La mayor parte de esta superficie se utiliza para la producción de aceite (98.000 ha) y sólo una pequeña parte se utiliza para la producción de aceitunas de mesa (*IDESCAT, 2009*).

### 1.1. Sistemas de producción.

La producción primaria de aceite de oliva es un proceso físico que se lleva a cabo en las almazaras y que consta de diferentes procedimientos:

**Operaciones previas o preliminares:** recepción y preparación de la oliva para su molturación posterior. Se incluyen las operaciones de recolección, transporte, lavado, control de peso y calidad y conservación de la materia prima.

**Molturación y batida:** preparación de la pasta. Consiste en la tritución y batida de la pasta para separar el aceite posteriormente. Al finalizar esta etapa se obtiene aceite libre, aceite retenido en la pasta y aceite emulsionado en la fase acuosa (alpechín).

**Extracción o separación:** Separación de la fase hidrófoba de la acuosa y la sólida. Actualmente hay tres tipos diferentes de extracción: extracción por prensa o extracción tradicional; extracción por centrifugación continua de tres fases; y extracción por centrifugación continua de dos fases.

Las almazaras varían en función del proceso de extracción que utilizan y, dependiendo de éste, otorgan unas características diferentes al aceite y varían la composición de los subproductos obtenidos (*Departament de Medi Ambient, 2002*).

**Proceso tradicional mediante prensa:** es un sistema de tres fases en el que se obtiene el aceite mediante la presión que ejerce una prensa hidráulica sobre la pasta obtenida en la batida. Se denomina sistema de tres fases debido a que se extraen tres tipos de productos: el aceite, el alpechín (aguas de vegetación de la oliva con aceite residual) y el orujo de tres fases (residuo sólido: huesos y pieles de la aceituna).

**Proceso de tres fases en continuo:** es un sistema de tres fases en el que se obtiene el aceite mediante centrifugación con centrífugas horizontales o *decánters*,

aprovechando la diferente densidad de los productos a separar. Este sistema ofrece mejores rendimientos y productividad frente al sistema anterior al eliminar los problemas de higiene industrial, y simplificar las instalaciones (con lo cual se necesita menos mano de obra y menos superficie). Al igual que en el sistema anterior se obtienen tres productos: aceite, alpechín y orujo de tres fases.

**Proceso de dos fases en continuo:** es una variante del sistema de tres fases en continuo en el que sólo se obtienen dos productos. La decantación separa el aceite y mezcla el alpechín con el orujo en un solo producto, el **alperujo** (residuo formado por las aguas de vegetación y las partes sólidas de la oliva). El hecho de no producir alpechín es una de las ventajas más importantes de este sistema, ya que el alpechín posee una gran carga orgánica (70 kg DQO·Mg<sup>-1</sup> de oliva) y un elevado contenido en polifenoles libres, es muy ácido y es salino. Por otro lado, en este proceso se consume un volumen mucho menor de agua y de energía, puesto que se utiliza la propia agua de vegetación de la oliva y no se necesita calentarla. Sin embargo, el alperujo obtenido por este sistema tiene un elevado contenido en humedad (>60%), lo que dificulta su transporte y gestión (*Departament de Medi Ambient, 2002*).

Otras ventajas del sistema de dos fases son la simplificación de la construcción de la instalación, un rendimiento mayor, un coste de operación menor y un aceite de mejor calidad, puesto que su resistencia a la oxidación es mayor y su carácter es más amargo (*Departament de Medi Ambient, 2002; Roig et al., 2005*). Actualmente, el sistema de dos fases en continuo es el más utilizado en España y Cataluña (*Departament de Medi Ambient, 2002*).

## 1.2. Características y gestión del alperujo.

El alperujo es un residuo semisólido con un elevado contenido en humedad (superior al 60%), ligeramente ácido y salino. Es un material rico en materia orgánica (supera el 90%), compuesta principalmente por lignina, hemicelulosa y celulosa. Presenta, también, nutrientes tales como potasio, fósforo y nitrógeno, aunque su relación C/N es elevada (*Departament de Medi Ambient, 2002; Albuquerque et al., 2003; Roig et al., 2005*).

Por otro lado, presenta una elevada proporción de lípidos, fenoles hidrosolubles, proteínas y carbohidratos. No presenta metales pesados (*Roig et al., 2005*).

Debido al alto contenido en humedad y a la presencia de carbohidratos, su gestión y transporte pueden ser complicados, pero aún así se presentan diferentes opciones (Roig et al., 2005).

Una de las más utilizadas es su **secado y posterior extracción de aceite residual** mediante hexano (aceite de orujo). Mediante el secado se dota al producto de las características precisas para la extracción de aceite. Después de obtener el aceite, el residuo puede **combustionarse** para obtener energía eléctrica y térmica (Alburquerque et al., 2003; Roig et al., 2005).

No obstante, este procedimiento es muy costoso debido a la humedad del residuo. Además, debido a las altas temperaturas necesarias para el secado (500-550 °C) y a la elevada presencia de compuestos aromáticos, se pueden liberar partículas sólidas y compuestos orgánicos volátiles, principalmente hidrocarburos aromáticos policíclicos (Departament de Medi Ambient, 2002). En el año 2001 sanidad inmovilizó todo el aceite de orujo de oliva de España al detectarse elevadas concentraciones de benzopireno, compuesto clasificado como agente carcinogénico para humanos según la IARC.

Se han diseñado algunos programas de secado efectivos. Sin embargo, éstos incrementan demasiado el coste debido a la gran cantidad de energía requerida, lo que provoca que no sea una solución viable (Roig et al., 2005).

En lo referente a la combustión del residuo obtenido en la segunda extracción de aceite, puede no ser una salida satisfactoria, ya que la recuperación de energía es muy baja debido a la remanente humedad del residuo (Roig et al., 2005).

Otra opción rentable y muy interesante es su **reciclado a través del suelo**. Esta opción ayudaría, además, a cerrar el ciclo de nutrientes y aportaría una gran cantidad de potasio al suelo, nutriente comúnmente limitante (ayudaría a equilibrar nutricionalmente los ecosistemas de olivar y a crear una agricultura sostenible) (Departament de Medi Ambient, 2002; López-Piñeiro et al., 2011).

No obstante, al presentar pH ácido y elevada salinidad podría influir negativamente al suelo y al desarrollo vegetal. De la misma forma, los fenoles y lípidos presentes en el residuo también pueden afectar al desarrollo biológico. Será necesario, por tanto, establecer un rango adecuado de dosis de aportación al suelo para aprovechar los beneficios de la aplicación del residuo, minimizando los efectos perjudiciales (Roig et al., 2005).

El residuo se puede compostar con la finalidad de que adquiera las características apropiadas para usarse como fertilizante orgánico o enmienda. Sin embargo, debido a su consistencia

pastosa queda compactado, hecho que obliga a seleccionar muy bien los materiales a compostar para obtener una pila de porosidad adecuada para favorecer su aireación.

Otras opciones con menos salidas son la alimentación animal - que se limita a países del norte de África - y la obtención de compuestos de interés - como las pectinas (hidrocoloides naturales usados como agentes gelificantes, estabilizadores y emulsionantes en la industria alimentaria) (*Departament de Medi Ambient, 2002*).

### **1.3. Marco legal del alperujo.**

Hay diferentes normativas que regulan el uso de los residuos de la producción de aceite de oliva. Concretamente para el alperujo, a pesar de que está regulada su comercialización y su vertido en las aguas, no está regulado su uso como enmienda.

- El Real Decreto 3499/81, del 4 de Diciembre, sobre medidas para evitar en la cuenca del río Guadalquivir la contaminación de las aguas y residuos de las almazaras previene el vertido incontrolado de los residuos de la producción de aceite de oliva en los ríos.

- El Decreto 290/1994, del 29 de Septiembre, sobre normas adicionales de autorización de almazaras obliga a las almazaras a declarar la destinación final de los residuos que producen, con la finalidad de mejorar los aspectos ambientales de éstos. Las almazaras que produzcan alperujo tendrán que justificar el compromiso de entrega de la pasta grasa a un industrial extractor autorizado por la Agencia de Residuos de Cataluña.

- El Real Decreto 506/2013, del 28 de junio, sobre productos fertilizantes contempla el uso del alperujo como enmienda agrícola, en jardinería o en la restauración de suelos contaminados. Para proceder a su comercialización, el alperujo necesita haber sufrido un pretratamiento - secado térmico o compostaje-, con unos valores límites de humedad, compuestos fenólicos y ratio C/N. Se exige, también, un contenido mínimo orgánico y la ausencia de impurezas y materiales inertes.

#### 1.4. Objetivo del estudio.

El **objetivo** del estudio consiste en el **análisis a nivel de laboratorio** de los efectos de la aplicación de un alperujo sin compostar sobre la fertilidad y las funciones de un suelo de olivar. Estos efectos se han estudiado mediante un experimento de incubación a medio plazo, de diferentes mezclas de suelo con alperujo, en un rango amplio de dosis de aplicación.

Lo anterior se ha llevado a cabo con el fin de **establecer una dosis recomendada de aplicación de alperujo en un olivar**, teniendo en cuenta parámetros agrológicos y ambientales.



## 2. MATERIALES Y MÉTODOS.

### 2.1. Materiales.

Las muestras testadas en este trabajo corresponden a alperujo de dos fases, un residuo procedente de la producción de aceite de oliva. Estas muestras han sido suministradas por la empresa *General d'Olis i Derivats S.L.* de Les Borges Blanques, dedicada al secado y extracción del aceite de orujo. El subproducto utilizado procede de una mezcla de orujos de dos fases de distintas almazaras y muestreado en dos períodos distintos (diciembre y enero). Sus características pueden observarse en la Tabla 1.

**Tabla 1. Principales características del alperujo utilizado (resultados expresados sobre materia seca en estufa a 105°C).**

Humedad	%	68,96
pH	-	4,68
Conductividad eléctrica	dS·m <sup>-1</sup>	5,72
Materia orgánica total	%	94,15
Carbono oxidable	%	36,46
Nitrógeno Kjeldahl	%	1,21
C/N	Ratio	44,14
Fósforo asimilable	%	0,089
Potasio	g K <sup>+</sup> ·kg <sup>-1</sup>	21,10
Sodio	g Na <sup>+</sup> ·kg <sup>-1</sup>	0,272
Calcio	g Ca <sup>2+</sup> ·kg <sup>-1</sup>	1,79
Magnesio	g Mg <sup>2+</sup> ·kg <sup>-1</sup>	1,22
Fenoles	mg fenol·kg <sup>-1</sup>	2932,26
Índice de germinación	%	<5

Se puede decir que se trata de un residuo con elevada humedad, orgánico, salino y ácido. Presenta niveles elevados de potasio y, en menor medida, de nitrógeno y fósforo. La relación C/N es elevada -debido a la elevada presencia de materia orgánica recalcitrante como lignina, hemicelulosa y celulosa- y presenta marcada fitotoxicidad.

El alperujo utilizado para el ensayo presenta unas características similares a la mayoría de residuos de este sector, por lo se puede considerar representativo de los orujos de dos fases (*Departament de Medi Ambient, 2002; Albuquerque et al., 2003; Roig et al., 2005*).

El suelo empleado para la incubación y la parte experimental corresponde a un horizonte A de un Regosol calcáreo (*FAO-UNESCO, 1998*) procedente de un campo de cultivo de olivos de Santa Bàrbara (Montsià). Las propiedades de éste son las expuestas a continuación (Tabla 2). Se trata de un suelo calcáreo, de pH básico, poco salino y de textura franco-arcillosa según la

USDA (USDA, 2015). Presenta el complejo de cambio saturado en calcio y niveles de materia orgánica y nitrógeno moderados. La relación C/N es adecuada para la actividad microbiana del suelo. Se ha elegido este suelo debido a que presenta unas características típicas de los suelos mediterráneos (López-Piñeiro et al., 2011; Martí et al., 2013).

**Tabla 2. Propiedades del suelo utilizado en el ensayo de incubación.**

pH <sup>a</sup>	-	7,5
Conductividad eléctrica <sup>a</sup>	dS·m <sup>-1</sup>	0,21
Carbono oxidable <sup>b</sup>	%	2,0
Nitrógeno Kjeldahl	%	0,21
C/N	Ratio	9,44
CaCO <sub>3</sub>	%	23,2
Textura (arena/limo/arcilla) <sup>c</sup>	%	43,4/22,3/34,3
Capacidad de intercambio catiónico <sup>d</sup>	Meq·100 g <sup>-1</sup>	18,23
Calcio intercambiable <sup>d</sup>	g Ca <sup>2+</sup> ·kg <sup>-1</sup>	12,554

<sup>a</sup>Extracto acuoso 1:10. <sup>b</sup>Carbono oxidable mediante el método de Walkley Black. <sup>c</sup>Método de sedimentación. <sup>d</sup>Extractos con acetato amónico 1N. Fuente: Martí et al (2013).

## 2.2. Diseño experimental.

Después de mezclar y homogeneizar las muestras de suelo y alperujo, se ha procedido a su incubación a temperatura y humedad controladas (25°C y al 50% de la capacidad de campo) en oscuridad durante seis meses (el estudio aún no está concluido, puesto que el experimento se quiere realizar a un año de duración).

Se han realizado tres réplicas para cada dosis de aportación de residuo determinada (0, 5, 15, 30, 100, 250 y 500 Mg·ha<sup>-1</sup>). La aplicación de una dosis de 5 Mg·ha<sup>-1</sup> cubriría las necesidades de potasio de un cultivo de olivar intensivo, mientras que la dosis de 15 Mg·ha<sup>-1</sup> cubriría tanto las necesidades de fósforo como de nitrógeno en caso de que todo lo aplicado estuviera disponible para el cultivo (GESFER, 2011). No obstante, se han analizado dosis superiores para analizar a nivel de laboratorio los efectos ambientales y los cambios en la fertilidad del suelo y para determinar la dosis tolerable por este tipo de suelo.

Se han recogido muestras a los 0; 8; 14; 30; 90 y 180 días de incubación.

### 2.3. Métodos analíticos.

El estudio de las muestras se ha realizado siguiendo los métodos habituales de análisis de suelo (Page, 1982).

- El contenido de humedad se determina mediante gravimetría, a partir de la pérdida de peso después de secar las muestras en la estufa durante 24-48 horas a una temperatura de 105°C a peso constante.

- El pH y la conductividad eléctrica se determinan potenciométricamente a temperatura ambiente a partir de una extracción acuosa de los residuos en proporción 1:10 (p:v), previamente agitada durante una hora y filtrada con filtro Whatman 42.

- El contenido en carbono orgánico se obtiene mediante el método Walkey-Black, que consiste en una oxidación por vía húmeda. Se oxida el carbono orgánico de la muestra con dicromato potásico en medio ácido y se valora por volumetría el exceso de dicromato con sal de Mohr ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ).

- El nitrógeno total se determina mediante el método Kjeldahl, que se basa en una digestión con ácido sulfúrico, lo que mineraliza el nitrógeno presente en la muestra en amonio. Posteriormente, se destila el amoníaco y se recoge en una solución de ácido bórico que se valora mediante ácido sulfúrico diluido por volumetría.

- El nitrógeno nítrico se determina mediante una adaptación del método 352.1 aprobado por la EPA (EPA, 1971). Éste se lleva a cabo mediante una colorimetría basada en la reacción del ión nitrato con sulfato de brucina en una solución de ácido sulfúrico.

- El fósforo asimilable se determina a partir de una solución extractada mediante el método Olsen, que se basa en la acción de un agente extractante (bicarbonato sódico 0,5M a pH 8,5). El extracto obtenido se valora mediante el método de Bray, una colorimetría basada en la reducción del ácido molibdofosfórico.

- La concentración de iones sodio y potasio se establece mediante fotometría de llama a partir del extracto de la muestra en acetato amónico 1N a pH 7, con una proporción de 1:20 (p:v).

- La concentración de iones calcio y magnesio se determina mediante una valoración por complexometría con EDTA a partir del extracto de la muestra en acetato amónico 1N a pH7, con una proporción de 1:20 (p:v).

- Los compuestos fenólicos solubles se determinan a partir de un extracto acuoso 1:10 (p:v) y mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Box, 1983).

- Para estudiar la actividad enzimática se ha visto la evolución de las enzimas deshidrogenasa y ureasa. La deshidrogenasa ha sido evaluada mediante el método de *Trevors et al.*, modificado por *García et al.* (García et al., 2003), el cual se basa en la estimación del iodonitrotetrazolio formazán (INTF) formado durante la incubación de la muestra con 2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-feniltetrazolio (INT). La actividad ureasa se ha analizado mediante el método de *Kandeler & Gerber* (García et al., 2003), el cual se basa en la estimación de la actividad mediante una colorimetría del amonio formado en la hidrólisis de urea.

- El consumo de oxígeno por respirometría se determina mediante el uso del sistema manométrico Oxitop®. El sistema mide la diferencia de presión producida a causa de la captura en pellets de  $\text{Ca(OH)}_2$  –soda lime- del  $\text{CO}_2$  emitido durante la respiración, durante la incubación a oscuras de la muestra, al 50% de la capacidad de campo y a 25 °C. Se determina el consumo de oxígeno periódicamente durante 45 días.

- Por último se han llevado a cabo ensayos de germinación para determinar la fitotoxicidad de las muestras para las semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) y rábano (*Raphanus sativus*) según la directriz 208 del (OECD, 2003). A los 4 días se mide la longitud del brote; sin embargo, en el caso de la cebolla se mide cada 8 días debido a que el tiempo de germinación es mayor en esta especie que en las otras dos. A partir de estos datos se calcula el índice de germinación (GI), que representa el porcentaje de crecimiento respecto al control. Los ensayos se llevaron a cabo por cuadruplicado (4 tiestos de 5 semillas cada uno).

## 2.4. Métodos estadísticos.

Los análisis estadísticos se han llevado a cabo mediante el programa IBM SPSS Statistics 21. Se han realizado correlaciones de Pearson/Spearman para obtener relaciones entre las variables, con un nivel de significación de p-valor <0,05 y p-valor <0,01. Se ha aplicado el test ANOVA de un factor para comparar las medias buscando diferencias significativas en relación a la dosis para cada tiempo muestreado, además se aplicó el post-hoc de Duncan. La significación estadística fue asignada a p-valor <0,05.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 3.1. Evolución de los parámetros con el paso del tiempo de incubación.

A continuación se muestran los resultados obtenidos de las mezclas de suelo y alperujo representados en figuras en las que se refleja la evolución de cada parámetro a lo largo del tiempo. Los resultados del suelo control (sin aporte de alperujo) se muestran en líneas discontinuas de color azul (dosis 0  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). Por otro lado, en el Anexo II se presentan los resultados numéricos en tablas con la significación estadística.

El primer parámetro estudiado, el **pH**, muestra una acidificación inicial al aumentar la dosis debido a que el residuo es ácido (Figura 3). Esta acidificación es significativa para las dosis de 250 y 500  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , donde la acidificación es de 0,5 puntos. No obstante, con el paso del tiempo, el pH acaba superando al inicial de forma significativa para las dosis de 250 y 500  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  - que lo superan en más de 0,3 puntos. *Sierra et al.* (2001) obtuvieron la misma tendencia en un estudio de campo sobre alpechín.

Podría deberse a que, gracias al gran aporte de potasio y de sodio por parte del residuo, éste da lugar a la formación de carbonatos potásicos y sódicos de hidrólisis más básica que los de calcio (*Sierra, 2003*), lo cual podría causar un pH más elevado que el inicial.

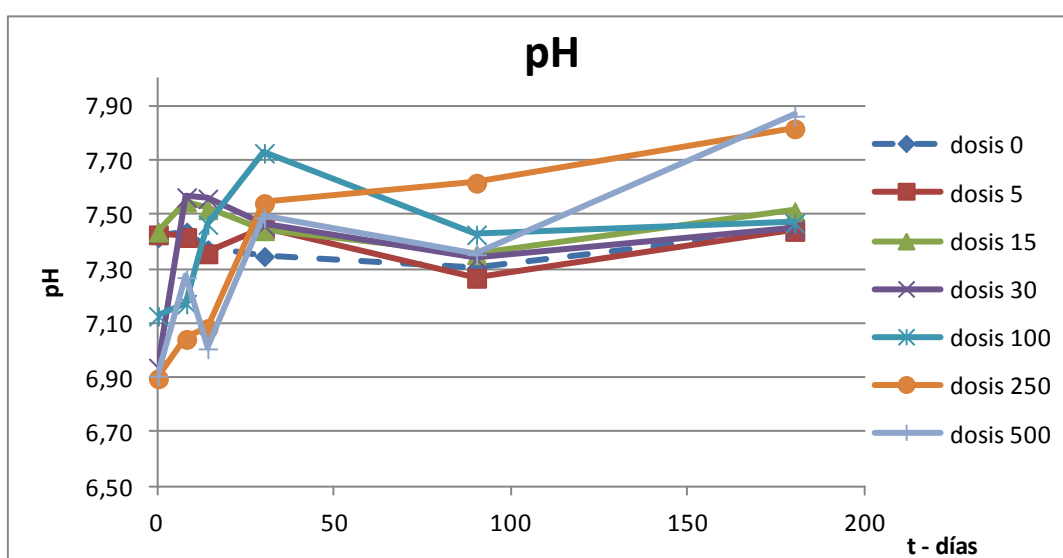


Figura 3. pH: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

En cuanto a la CE (Figura 4), se observa una relación directa entre la dosis y el aumento de la conductividad. En las dosis más altas (250 y 500  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) se aprecia un incremento significativo de la salinidad. Estos valores, según el *CIDIA* (*CIDIA, 1985*) y la *USSL* (*USSL, 1954*) pueden

indicar problemas de salinización del suelo, ya que a partir de  $0,5 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , en un extracto 1:10 (p:v), hay riesgo de salinización (Figura 5). Sin embargo, la dosis de  $250 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  tiende a recuperarse con el tiempo.

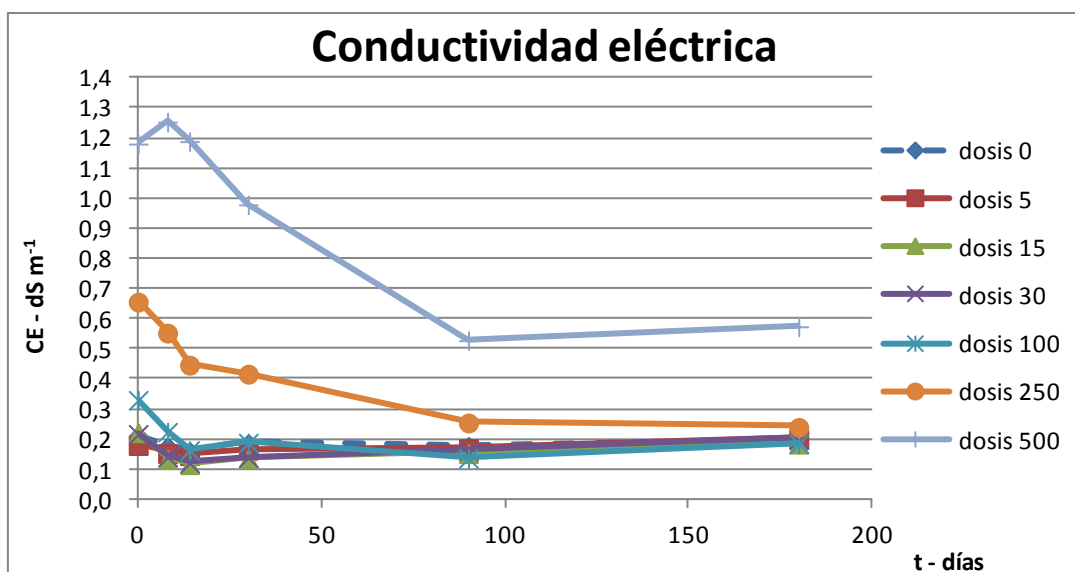


Figura 4. CE: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

Puesto que el experimento se ha realizado en recipientes herméticos donde no puede haber pérdidas por lixiviación, una posible explicación al descenso de la salinidad podría ser el aumento de CIC del suelo gracias a la materia orgánica aportada por el residuo que permite fijar parte de las sales presentes en la solución del suelo (Sierra, 2003).

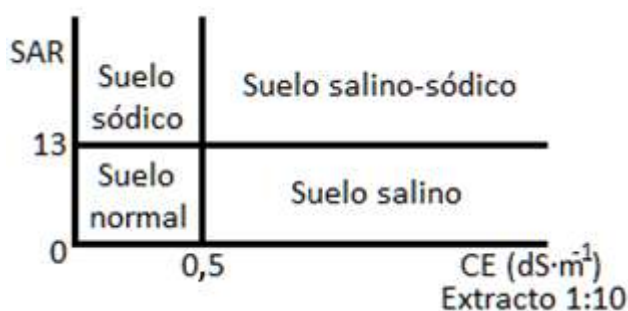


Figura 5. Clasificación de suelos según salinidad y sodicidad.  $4 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$  en extracto de pasta saturada equivalen a  $0,5 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$  en extracto 1:10. Fuente: Elaboración propia a partir de la información proporcionada por la USSL (1954); el Centro Interamericano de Documentación e Información Agrícola (1985); y el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (2005).

La cantidad de carbono oxidable (Figura 6) aumenta al aumentar la dosis debido a que el residuo es rico en materia orgánica. El aumento es significativo a partir de la dosis de  $100 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . A tiempo inicial el aumento se corresponde con la dosis aportada, ya que en la dosis

de  $100 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  se obtiene un 137 % respecto al valor inicial a dosis  $0 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , mientras que en la dosis de  $250 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  se obtiene un 278 % y en la dosis de  $500 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  un 527 %.

Con el paso del tiempo, la cantidad de carbono disminuye sólo ligeramente debido a que el residuo tiene compuestos recalcitrantes (como lignina proveniente del hueso de la oliva) que son más difíciles de digerir y ayudan a mantener la cantidad de carbono oxidable. El descenso es mayor a medida que aumenta la dosis, hasta la dosis de  $100 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  los niveles de carbono se mantienen prácticamente estables a lo largo del tiempo, mientras que en las dosis de 250 y  $500 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  se aprecia un descenso, siendo éste más marcado para la dosis de  $500 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . El alperujo podría dar un aporte de carbono al suelo, sirviendo de fertilizante orgánico.

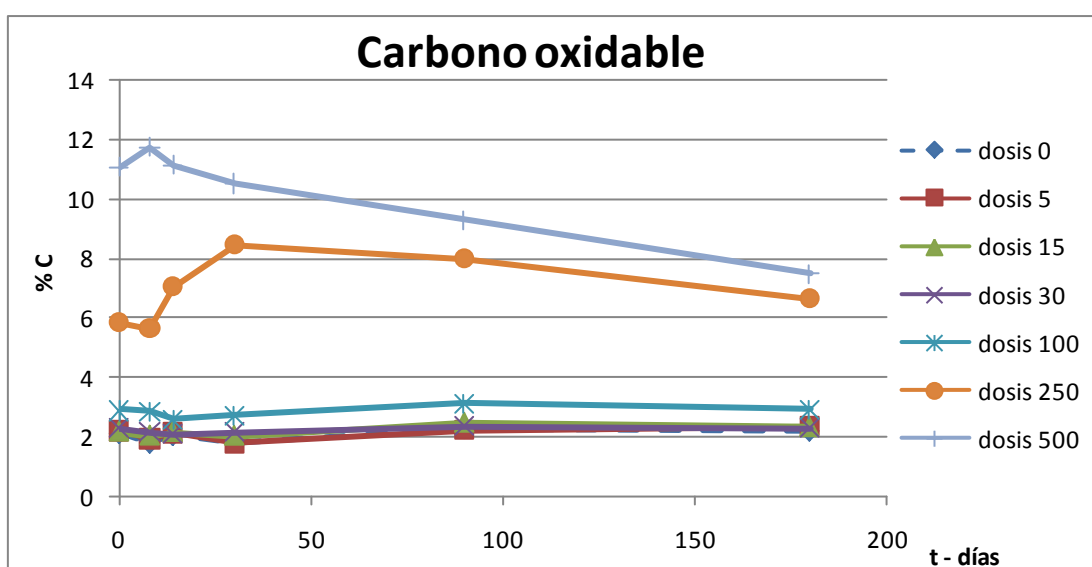
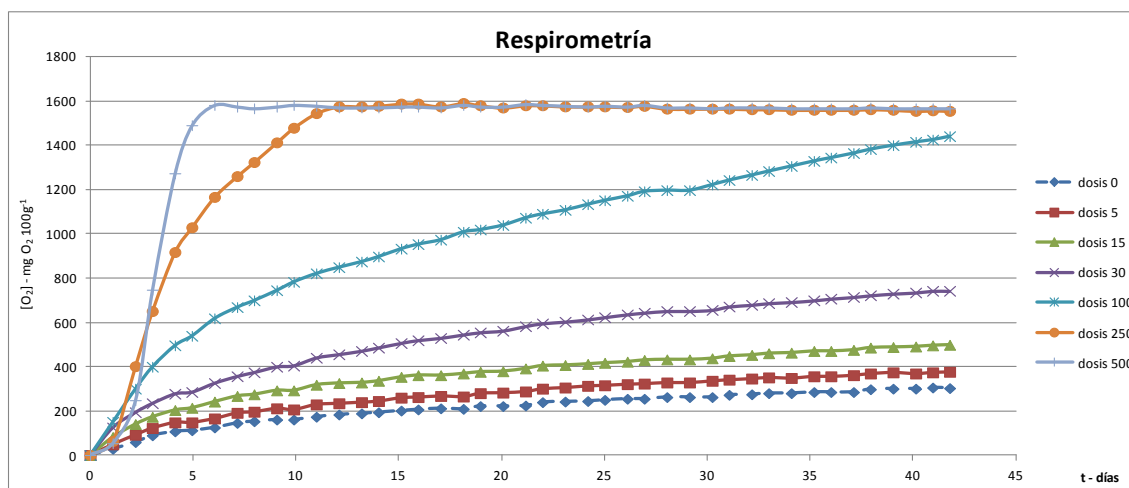


Figura 6. Carbono oxidable: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

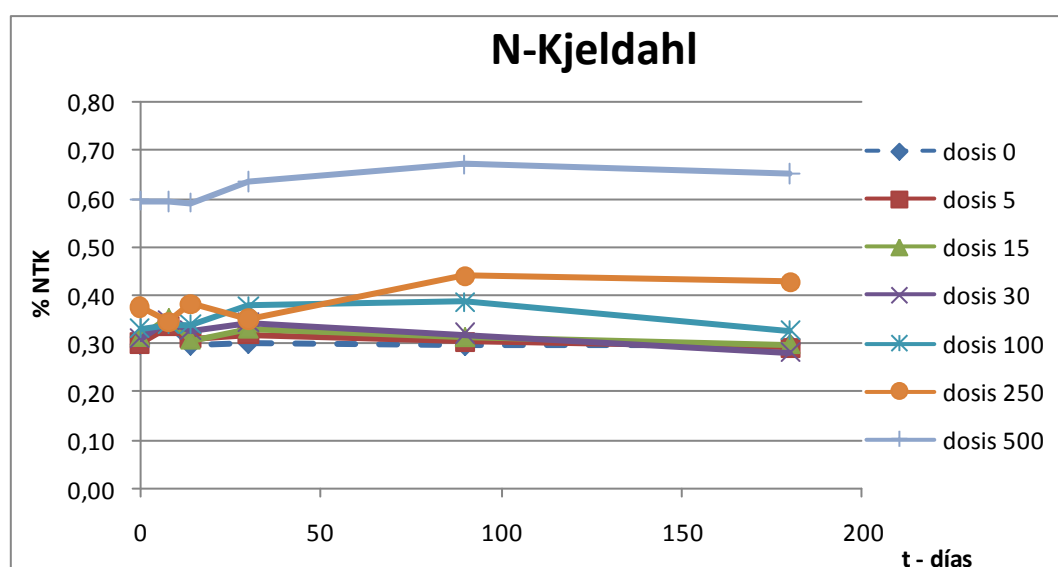
También se ha realizado un experimento de respirometría con mezclas de alperujo y suelo para estudiar la evolución del consumo de oxígeno en función del tiempo (Figura 7). Al aplicar el residuo se produce un aumento del consumo de oxígeno debido a la actividad microbiana (Sierra, 2003). En general se observa que a mayor dosis, mayor es el consumo de oxígeno inicial, esto indica que se están mineralizando los compuestos lábiles del residuo, tales como azúcares, alcoholes, fenoles, grasas, carbohidratos hidrosolubles y proteínas (Alburquerque *et al.*, 2003; Sierra, 2003). En general, no se aprecia inhibición de la actividad respiratoria, excepto para las dosis de 250 y  $500 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  donde se puede intuir cierto “time-lag” que podría indicar cierta toxicidad para los microorganismos del suelo. Aún así, algunos estudios indican que este tipo de residuos no tienen toxicidad microbiana, sino que provocan una estimulación del crecimiento de las poblaciones bacterianas (Sierra, 2003).



**Figura 7. Respirometría: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada. En las dosis más altas se aprecia un valor límite debido a la saturación del recipiente, se presupone que la respirometría hubiera seguido la tendencia de las demás dosis en caso de no producirse el colapso del recipiente.**

En relación al nitrógeno, la cantidad de Nitrógeno Kjeldahl (Figura 8) aumenta al aumentar la dosis de forma significativa a partir de 100  $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ . A lo largo del tiempo, los niveles de nitrógeno total se mantienen estables.

López-Piñeiro *et al.* (2011) realizaron un estudio en campo sobre los efectos del alperujo en las propiedades del suelo estudiado. Realizaron aplicaciones anuales durante 8 años y analizaron los efectos residuales al cabo de dos años de la última aplicación. Pasados los 10 años del estudio, también observaron el aumento de nitrógeno total de forma significativa.



**Figura 8. Nitrógeno Kjeldahl: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.**



También se ha seguido la evolución de la producción de nitrato (Figura 9) para valorar si el aporte de alperujo altera o no el proceso de nitrificación. En los resultados del control se observa que a lo largo de la incubación los niveles de nitrato aumentan debido al proceso de nitrificación. En cambio, a medida que aumenta la dosis, la producción de nitrato disminuye respecto al control de forma significativa para todas las dosis, sobre todo durante los primeros días de incubación donde se alcanzan valores cercanos a cero para todas dosis excepto para 5 Mg·ha<sup>-1</sup>. Entre el día 30 y el día 90 las dosis de 15 y 30 Mg·ha<sup>-1</sup> parecen empezar a nitrificar al mismo ritmo que el suelo control, mientras que a las dosis superiores se sigue inhibiendo este proceso. Para la dosis de 100 Mg·ha<sup>-1</sup>, pasados los 90 días parece que empieza a nitrificar, mientras que las dosis de 250 y 500 Mg·ha<sup>-1</sup> se mantienen inhibidas incluso seis meses después del aporte del residuo. Por lo tanto, se podría intuir que a partir de un cierto momento, diferente para cada dosis, la cantidad de nitrato vuelve a aumentar porque se recupera la nitrificación. Sierra (2003) obtuvo la misma evolución en su estudio sobre alpechines y resolvió que se debía a la alta relación C/N del residuo.

López-Piñeiro *et al.* (2011), realizaron un estudio de campo sobre los efectos del alperujo en una zona que ha sufrido aplicaciones reiteradas durante ocho años. Analizaron los niveles de nitrato al cabo de uno y dos años desde la última aplicación y apreciaron un aumento significativo en la cantidad de nitrógeno en forma de nitrato en ambos años a medida que aumentaba la dosis (27 y 54 Mg·ha<sup>-1</sup>). Por lo tanto, se podría pensar que el nitrato, a pesar de mostrar una inmovilización inicial, al cabo de cierto tiempo va recuperando los niveles del control y acaba superando dichos niveles.

La inmovilización del nitrato podría deberse a la alta relación C/N del residuo (44), este efecto se conoce como *Hambre de nitrógeno*. La inmovilización del nitrógeno se produce a partir de una C/N superior a 25 (Kavdir, & Killi, 2008). Sierra *et al.* (2007) observan el mismo efecto con la aplicación de alpechines en campo, en un estudio de 4 meses, entre dosis de 30 a 360 m<sup>3</sup>·ha<sup>-1</sup>.

En este trabajo también se ha observado que algunas funciones enzimáticas pueden alterarse con la aplicación de alperujo al suelo y pueden influir en la formación de nitrato. En el Anexo I se aprecia una correlación positiva entre los nitratos y la actividad ureasa (p-valor<0,01).

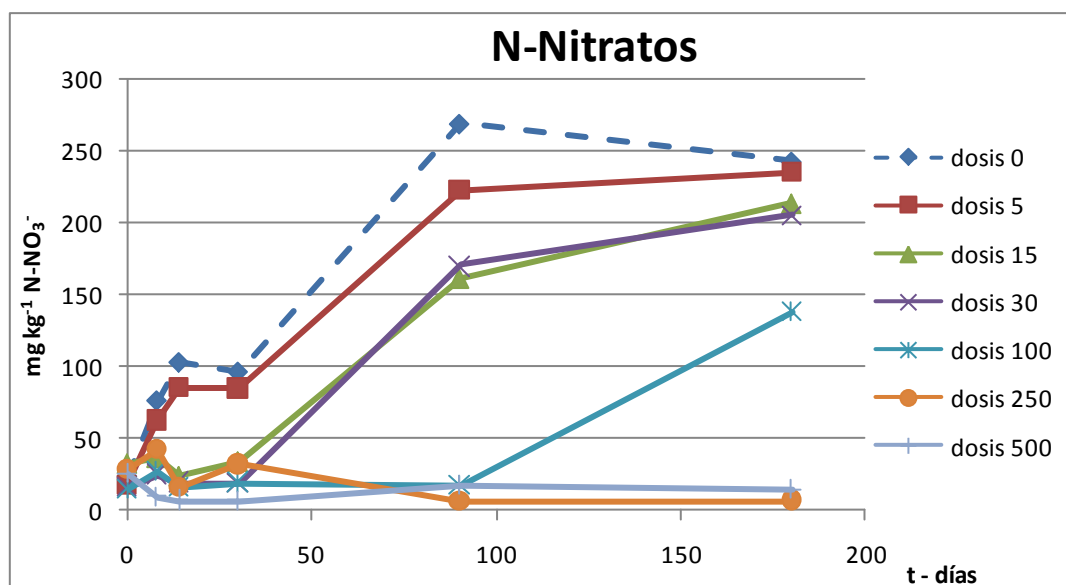


Figura 9. Nitrógeno en forma de nitratos: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

La ureasa es una actividad enzimática que actúa en las primeras etapas de la nitrificación, catalizando el paso de nitrógeno orgánico a amonio (Henríquez *et al.*, 2014). En la Figura 10 se puede observar que hay un comportamiento ambivalente en función de la dosis de forma significativa para todas ellas. Por ejemplo, para las dosis de 250 y 500  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  hay mayor inhibición de la ureasa desde el inicio de la incubación, donde la inhibición es prácticamente total. No obstante, con el paso del tiempo la actividad se va recuperando, aunque a los seis meses las dosis de 250 y 500  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  aún presentan una inhibición del 60 % aproximadamente y la dosis de 100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  del 13 %.

En cambio, las dosis inferiores a 100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  muestran una estimulación de la actividad ureásica por encima del control de forma significativa. Este hecho implicaría que el aporte de alperujo a dosis moderadas favorece la actividad ureásica del suelo, lo cual también lo deducen López-Piñeiro *et al.* (2011) en su estudio sobre alperujo en campo con dosis de 27 y 54  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

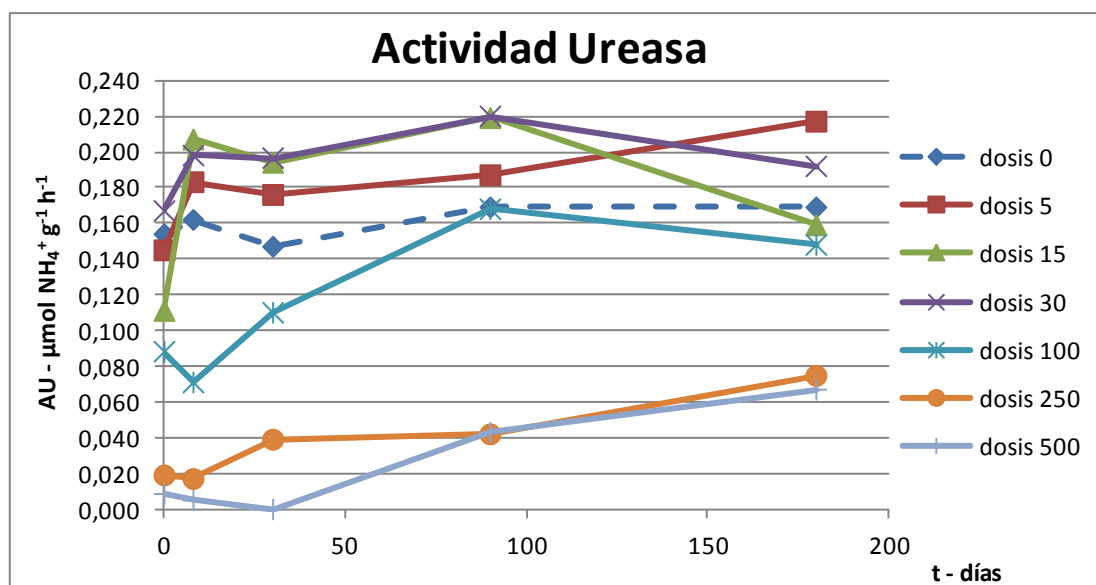


Figura 10. Actividad ureásica: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

Se ha descrito que la inhibición de la actividad ureásica puede deberse a un exceso de amonio en el suelo - el amonio, al ser el producto final de la reacción que lleva a cabo la ureasa, podría inhibir dicha enzima si llega a una concentración crítica (*García et al., 2003*). Sin embargo, al observar los niveles de amonio en el suelo incubado (Figura 11), se aprecia que tanto el suelo control como las mezclas presentan valores similares para todos los tiempos de incubación, por lo que se supone que no hay inhibición por formación de producto.

Por otro lado, también podría deberse a la inmovilización, por parte de los microorganismos, del amonio formado durante el ensayo de la actividad ureásica debido a la alta relación C/N del residuo (teniendo en cuenta que esta técnica se basa en medir la cantidad de amonio formado por la ureasa, estaríamos subestimando la actividad de la enzima). No obstante, a diferencia del nitrato, el amonio se retiene en el complejo de cambio, lo que dificulta su inmovilización. *Sierra (2003)*, en su estudio sobre alpechines, también observó que el amonio no se inmovilizaba y dedujo que podría deberse a que queda adsorbido en el complejo de cambio. Además, mientras que en el caso del nitrato todas las dosis quedan por debajo del control (hecho que refuerza la teoría de su inmovilización), en el caso del amonio las dosis inferiores a  $30 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$  muestran valores por encima del control; por lo tanto, es bastante posible que no haya inmovilización de amonio o que ésta sea muy baja.

Por último, la inhibición de la enzima podría deberse a que algún otro componente del alperujo está interfiriendo con ella. Como ya se ha comentado en el apartado de materiales y métodos, los aperujos son ricos en polifenoles. Entre los fenoles presentes pueden existir

compuestos polifenólicos, entre los que se encuentran los taninos que presentan la capacidad de precipitar proteínas (Vázquez *et al.*, 2009), hecho que puede favorecer la inactivación de enzimas tales como la ureasa. En la Anexo I se aprecia una correlación negativa con un nivel de significación del 0,01 entre los fenoles y la actividad de la ureasa, lo que puede reforzar la hipótesis de la inhibición de la ureasa por parte de los fenoles.

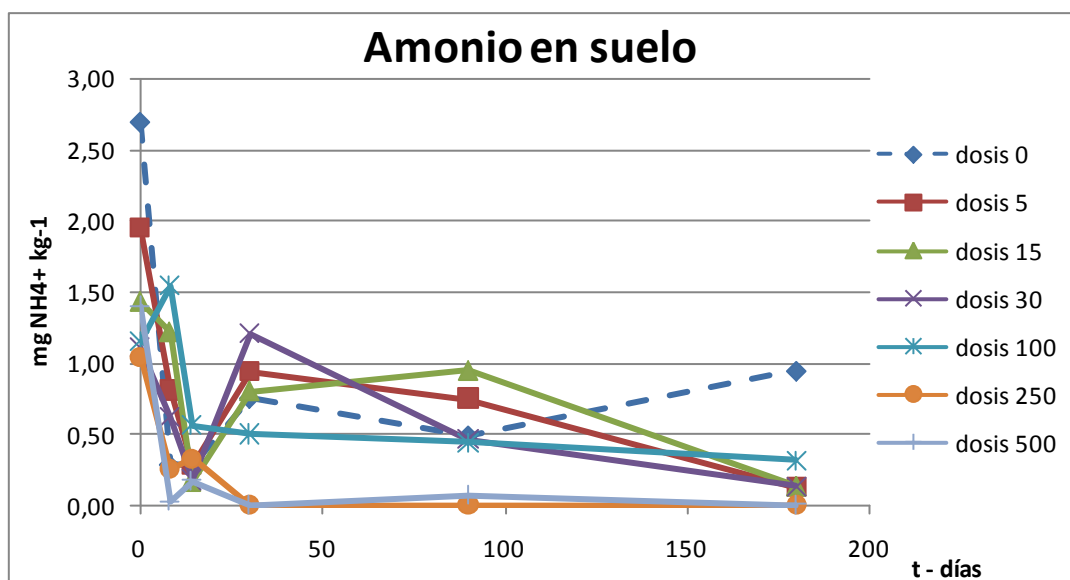


Figura 11. Amonio en suelo: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

La deshidrogenasa es un indicador de la actividad microbiana, puesto que participa en la oxidación biológica de la materia orgánica y se encuentra únicamente en sistemas vivos (Wolinska & Stepniewska, 2012; Henríquez *et al.*, 2014). Ésta se estimula por encima del control en dosis inferiores o iguales a 100  $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$  (Figura 12). La dosis de 250  $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ , a pesar de que al principio provoca inhibición, a partir de un mes también produce estimulación. En cambio, la dosis de 500  $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$  siempre muestra inhibición. López-Piñeiro *et al.* (2011), en su estudio sobre alperujo a dosis de 27 y 54  $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ , también vieron una estimulación por encima del control para ambas dosis.

A largo plazo se muestra un aumento significativo a partir de la dosis de 15  $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ . La dosis de 500  $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$  muestra diferencias significativas, pero por debajo del control. Por lo tanto, a pesar de presentar un cierto "time-lag" a tiempo inicial, la actividad deshidrogenasa parece recuperarse rápidamente e, incluso, superar al control para todas las dosis excepto la más alta.

Así que, la aplicación de alperujo podría ayudar a mejorar la actividad biológica del suelo, lo cual también se concluye en otros trabajos sobre la toxicidad del alperujo a dosis de 7,5 y 30 Mg·ha<sup>-1</sup> (Martín *et al.*, 2002). Según Sampedro *et al.* (2009), en su estudio sobre la aplicación de alperujo al suelo de 45 días de duración, la toxicidad sobre los microorganismos y las funciones enzimáticas (entre las que se encuentra la deshidrogenasa) no es significativa a dosis de alperujo bajas, por lo que se podría aplicar este residuo hasta una concentración de 54 Mg·ha<sup>-1</sup>.

El aumento de la actividad deshidrogenasa, que comporta un aumento de la actividad biológica, podría deberse al incremento de la biomasa microbiana debido a la adición de sustratos orgánicos disponibles, los cuales pueden promover el crecimiento de los microorganismos (Benítez *et al.*, 2000; Sierra, 2003). En algunos estudios sobre la actividad de las enzimas del suelo (Wolinska & Stepniewska, 2012; Henríquez *et al.*, 2014) se ha visto relación positiva entre el contenido en materia orgánica del suelo y la actividad deshidrogenasa. No obstante, en este trabajo se ha obtenido una correlación negativa (p-valor<0,01) entre la cantidad de carbono oxidable y la actividad deshidrogenasa. Se debe a que a el residuo causa tanto efectos positivos como negativos sobre la actividad deshidrogenasa y, dependiendo de cuáles influyan más ella, mostrará una tendencia u otra. En este caso, la toxicidad tiene más efecto que el incremento de materia orgánica, por lo que se aprecia una correlación negativa indirecta entre materia orgánica y actividad deshidrogenasa.

En este estudio también se ha visto una correlación negativa entre la conductividad eléctrica y los fenoles con la actividad deshidrogenasa (p-valor<0,01 en ambos casos), lo que haría pensar que la toxicidad del residuo podría prevenir de la elevada presencia de fenoles y de la salinidad.

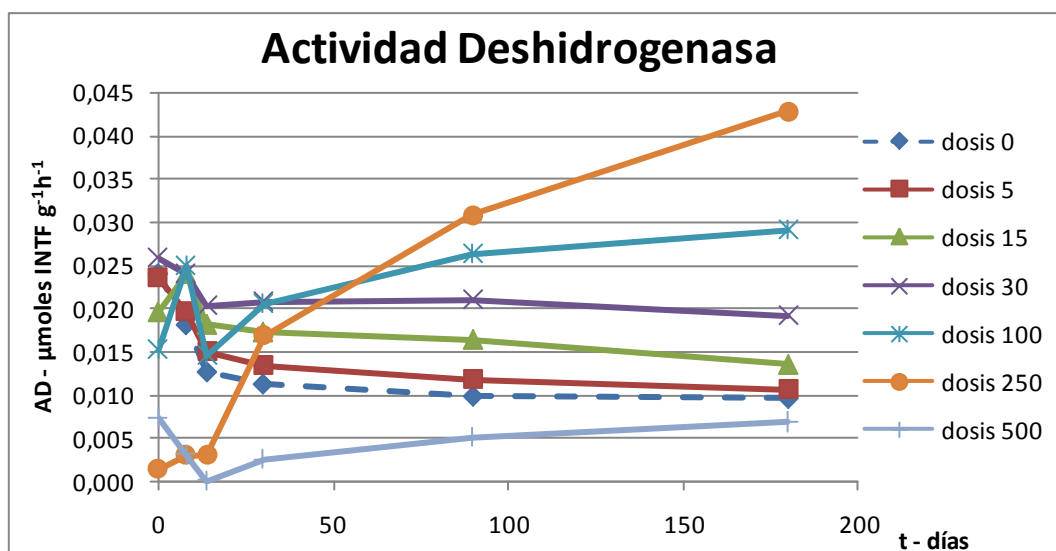


Figura 12. Actividad deshidrogenasa: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

El potasio (Figura 13) muestra un claro aumento a medida que aumenta la dosis, lo cual era esperable debido al alto contenido en potasio del residuo. Este aumento es significativo a partir de la dosis de 15  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Dicho aumento se mantiene constante con el paso del tiempo.

Sierra (2003), en su estudio sobre alpechines, también observó este aumento. Por otro lado, López-Piñeiro *et al.* (2011) también obtuvieron este aumento de potasio al analizar los efectos residuales del alperujo al cabo de dos años de la última aplicación en campo después de realizar aplicaciones anuales durante 8 años.

El potasio es el parámetro que más efecto muestra, ya que hay diferencias significativas mucho más marcadas. Los porcentajes alcanzados respecto al control, tanto a tiempo inicial como final, se sitúan en torno al 200 % para la dosis de 100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ; al 400 % para la dosis de 250  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ; y al 700 % para la dosis de 500  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , por lo que el aumento de potasio en el suelo es considerable.

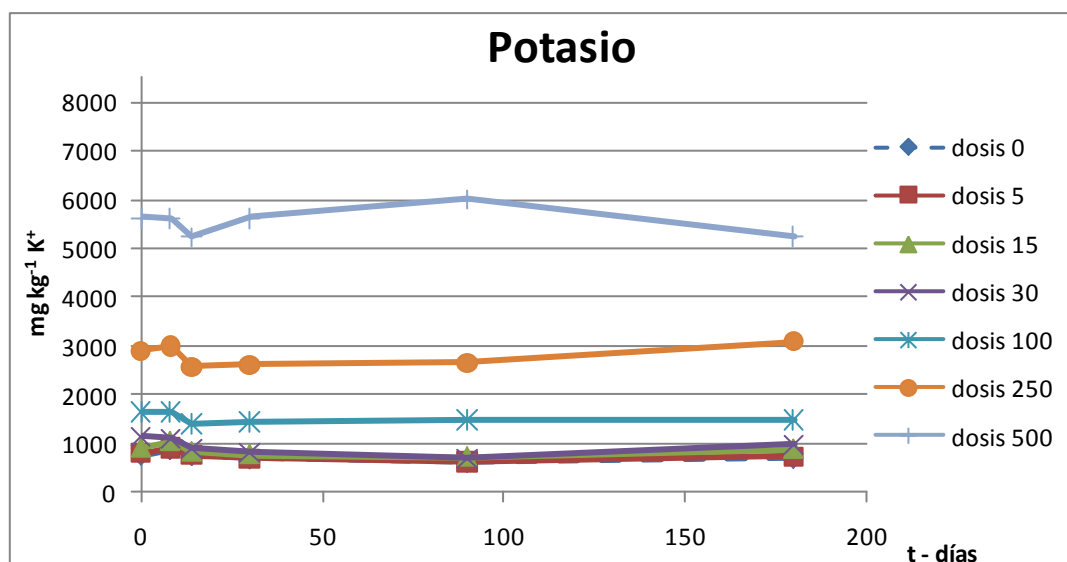


Figura 13. Potasio: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

Los niveles de sodio (Figura 14) también aumentan al aumentar la dosis. Este aumento es significativo para las dosis iguales o superiores a 100  $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Sin embargo, no hay riesgo de sodificación debido a que la SAR en el control es 0,41 y en el punto más elevado (dosis de 500  $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ , 90 días) es 2,21, por lo que no se llega a suelo sódico – hecho común en suelos calcáreos donde hay exceso de iones calcio. Según la *USSL* (*USSL, 1954*), un suelo es sódico a partir de una SAR superior a 13 (Figura 5).

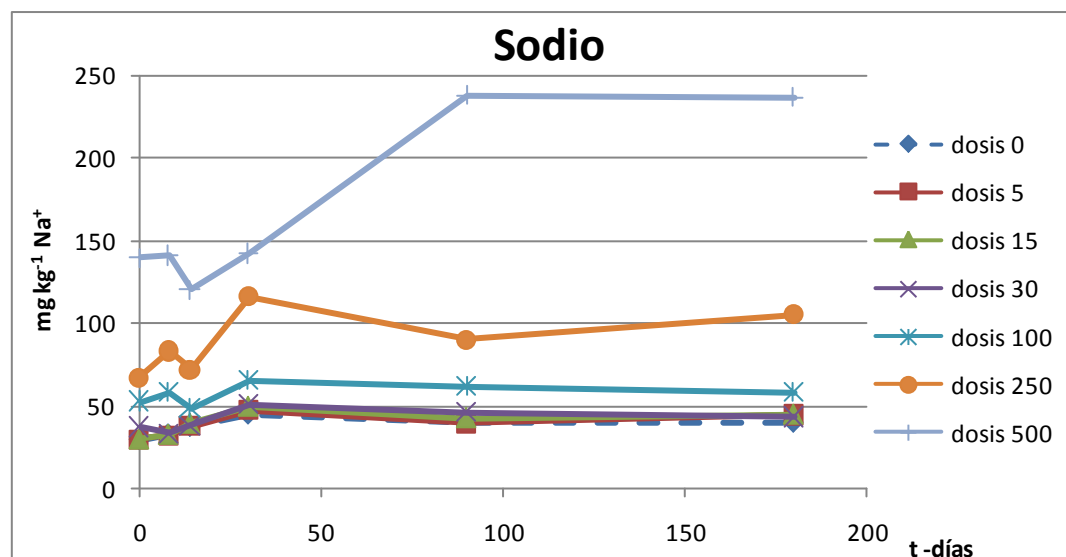


Figura 14. Sodio: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

En este estudio también se analizaron los niveles de fósforo asimilable. En la Figura 15 se aprecia un aumento significativo en los niveles de fósforo a medida que aumenta la dosis. Sin

embargo, también se aprecia una disminución durante la primera semana que se acaba recuperando al cabo de dos semanas, tanto en el suelo control como en las mezclas. Pasadas dos semanas sólo se aprecian diferencias significativas para la dosis de  $500 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

La disminución inicial en los niveles de fósforo podría deberse a la adsorción por parte de los coloides del suelo o a la inmovilización debida a los microorganismos o al calcio del suelo (Sierra, 2003).

En un estudio sobre los efectos del alperujo en campo se aprecia un aumento de fósforo asimilable al aplicar este residuo al suelo (López-Piñeiro *et al.*, 2011). En el mismo estudio también se indica que a pesar de que la relación C/P del residuo sea alta, no se inmoviliza todo el fósforo.

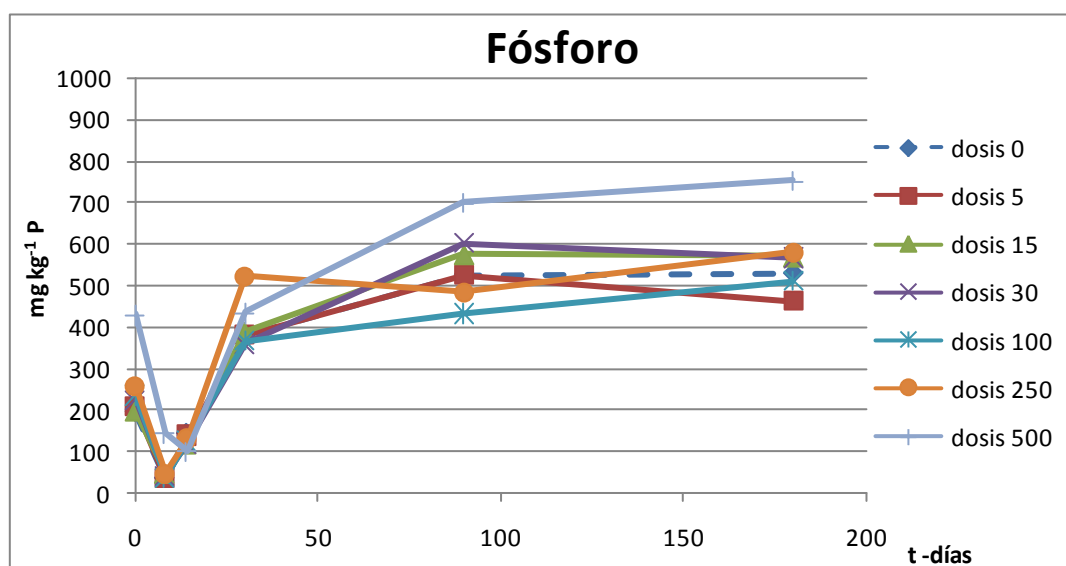


Figura 15. Fósforo asimilable: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

Al analizar los fenoles se ha visto que sus niveles al inicio aumentan a medida que aumenta la dosis (Figura 16). Este aumento es significativo a partir de  $100 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . No obstante, se aprecia que los niveles de fenoles disminuyen con el paso del tiempo. Sin embargo, en las dosis iguales o superiores a  $100 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  se sigue apreciando un aumento significativo de fenoles respecto al control después de 90 días. Al cabo de seis meses, la dosis de  $500 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  aún muestra un aumento significativo de fenoles. Debido a la tendencia seguida por los fenoles en todas las dosis, es de esperar que los fenoles a dosis de  $500 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  acabará volviendo a los niveles del control con el paso del tiempo.

Según algunos autores, la disminución de fenoles se corresponde con el aumento de la actividad respiratoria (respirometría) y de la actividad microbiana (Sierra, 2003). Por lo tanto,



se puede intuir que los fenoles presentes en el residuo son biodegradables (Sierra *et al.*, 2007; López-Piñeiro *et al.* 2011).

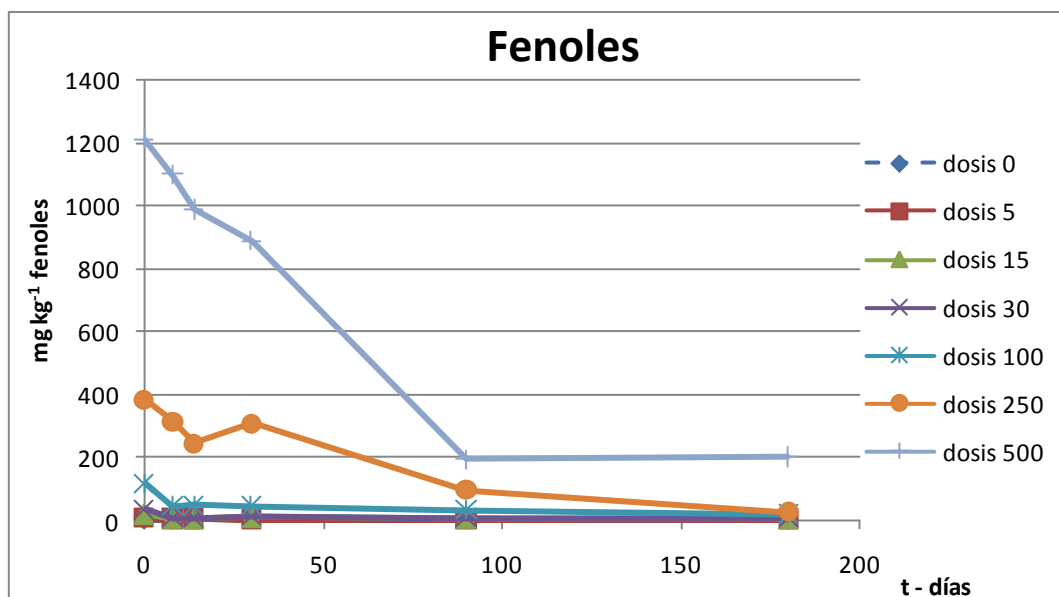


Figura 16. Fenoles: Evolución a lo largo del tiempo de incubación para cada dosis estudiada.

Para acabar, se ha estudiado la fitotoxicidad del residuo analizando los índices de germinación de lechuga y rábano (*Lactuca sativa* y *Raphanus sativus*, respectivamente) para los tiempos de 0, 30 y 90 días.

En el caso del rábano (Figura 17, a), se muestra una inhibición inicial significativa a medida que aumenta la dosis, en todas las dosis. Estas diferencias significativas se mantienen al cabo de 90 días. No obstante, se podría decir que con el paso del tiempo, la germinación se va recuperando para las dosis de 5-30  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , debido a que presenta una germinación por encima el 84% para éstas. En el caso de la lechuga (Figura 17, b), al tiempo inicial se muestran diferencias significativas a partir de la dosis de 15  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , pero al cabo de 90 días sólo se muestra inhibición de la germinación de forma significativa para dosis iguales o superiores a 250  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

En el Anexo I se muestran los datos de correlación entre los diferentes parámetros estudiados. En dicho anexo se aprecia una correlación significativa negativa entre la germinación de ambas especies y los fenoles ( $p\text{-valor} < 0,01$ ). Por lo tanto, la germinación podría verse inhibida debido a la presencia de fenoles. Martín *et al.* (2002), en su estudio sobre la fitotoxicidad del alperujo en la lechuga y en la soja, y Hammann *et al.* (2011), en su estudio sobre fitotoxicidad

en lechuga por alperujo compostado, también propusieron que la toxicidad proviene de los fenoles.

Se presenta además correlación negativa ( $p\text{-valor}<0,01$ ) entre la salinidad y la germinación, por lo que la inhibición de la germinación también podría estar determinada por la salinidad. *Sierra (2003)*, en su estudio sobre alpechines, y *Hammann et al. (2011)*, en su estudio sobre fitotoxicidad en lechuga por alperujo compostado, también aprecian esta relación entre la salinidad y la germinación. Otros estudios indican que la fracción lipídica de este residuo también genera fitotoxicidad (*Alburquerque et al., 2003; Sampedro et al., 2009*).

Por último, la correlación positiva entre los nitratos y los índices de germinación ( $p\text{-valor}<0,01$ ) indicarían que la falta de este nutriente puede ser causa de inhibición del crecimiento vegetal junto con los fenoles y las sales. Esto recalca la importancia de este nutriente dentro del crecimiento vegetal, por lo que hay que prestar un mayor interés por el tiempo de inmovilización de este nutriente al aplicar el alperujo al cultivo.

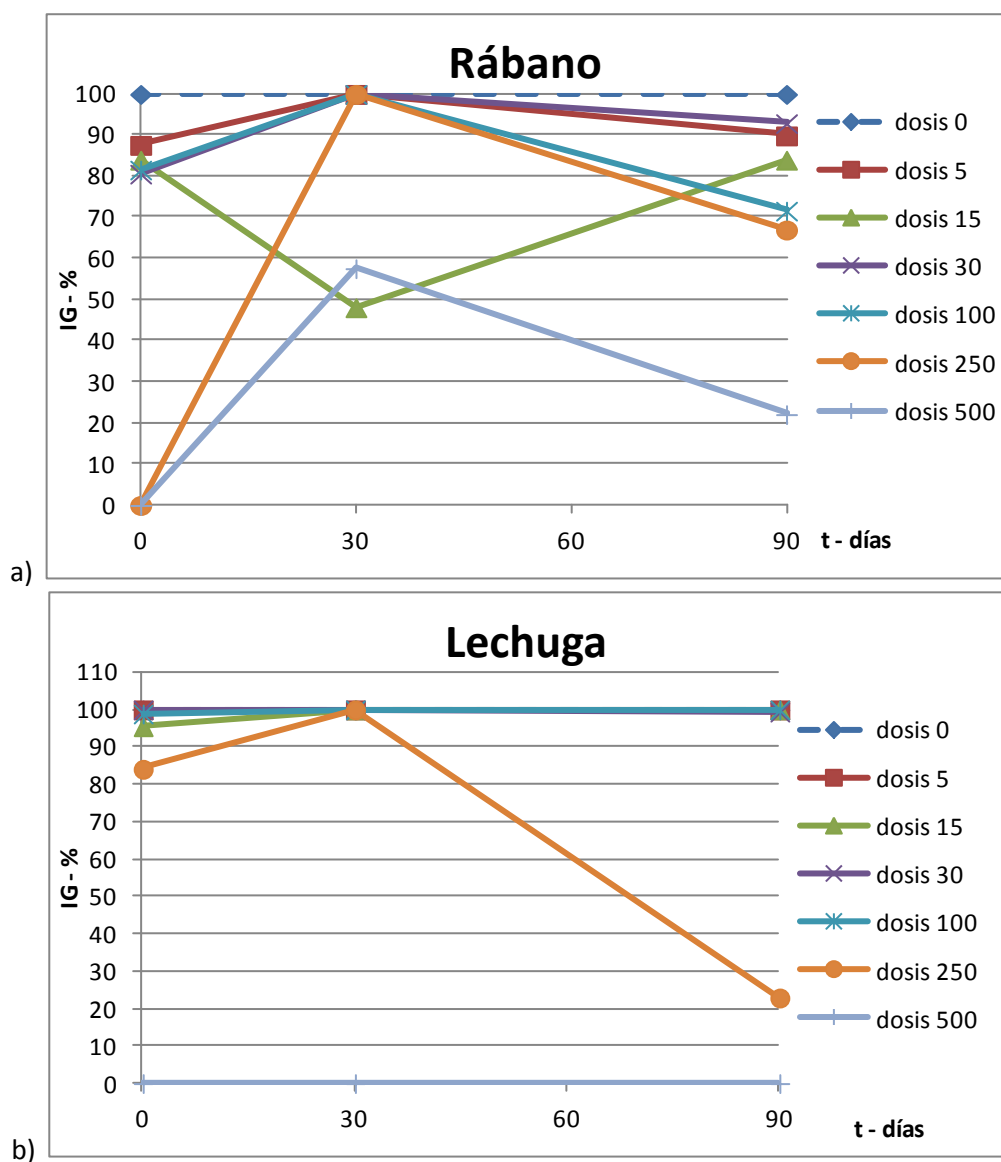


Figura 17. Índice de germinación para las especies rábano (a) y lechuga (b): Evolución a lo largo de la incubación para cada dosis estudiada.

### 3.2. Estimación de una dosis recomendada de aplicación de alperujo en suelo.

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo, se ha querido establecer una dosis recomendada de aplicación de alperujo en un suelo de olivar. En la Tabla 3 se recogen las dosis mínimas con efecto significativo, tanto positivo como negativo, para cada parámetro estudiado.

**Tabla 3. Dosis mínima con efecto significativo establecida para cada parámetro según los resultados de este trabajo. En verde se muestran las dosis a partir de la cual se obtendría un efecto positivo mientras que las marcadas en rojo causarían un efecto negativo. También hay dosis marcadas en naranja, puesto que a partir de éstas dosis se apreciaría un efecto negativo que se podría corregir con el tiempo.**

Parámetros	Dosis mínima con efecto significativo (LOEL) – Mg·ha <sup>-1</sup>	
	Fertilidad	Impacto negativo
pH	-	-
CE	-	250 500
Cox	100	-
NTK	100	-
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	15 100
P	500	-
AU	5	100 250
DHA	15	250 500
K <sup>+</sup>	15	-
Na <sup>+</sup>	-	-
Fenoles	-	100
Fitotoxicidad	-	100

Se ha observado que la aplicación de este residuo no tiene efectos importantes en el **pH** (la acidificación inicial se neutraliza al cabo de dos semanas y no produce efectos adversos). Hay que tener en cuenta que este trabajo se ha realizado en un suelo calcáreo con la capacidad de tamponar el pH, es posible que en un suelo granítico el efecto sea negativo y sí haya limitación en la dosis de aplicación.

En el caso de la **conductividad eléctrica**, sólo hay riesgo de salinización en las dosis de 250 y 500 Mg·ha<sup>-1</sup> y, en el caso de la dosis de 250 Mg·ha<sup>-1</sup>, la salinización se amortigua al cabo de dos semanas. Por lo tanto, se recomienda no superar una dosis de 250 Mg·ha<sup>-1</sup> para evitar una posible salinización. Sin embargo, los niveles de **sodio** presentan un aumento significativo, pero no hay riesgo de sodicidad.

En cuanto a los nutrientes aportados por el alperujo, se ha observado que su aplicación a partir de 100 Mg·ha<sup>-1</sup> aporta cantidades significativas y estables a lo largo del tiempo de **nitrógeno total**. Sin embargo, no hay efectos significativos en los niveles de **fósforo**, salvo para la dosis de 500 Mg·ha<sup>-1</sup>. Por otro lado, en dosis de 15 Mg·ha<sup>-1</sup> o superiores, el aporte de

**potasio** también es significativo y estable. Por lo que se recomienda una dosis comprendida entre 15-100 Mg·ha<sup>-1</sup> para garantizar el aporte de potasio y aplicar parte del nitrógeno total requerido, a pesar de que los niveles de fósforo no varíen.

Según el *Consorcio de Gestión de la Fertilización Agraria de Catalunya (GESFER, 2011)*, la aplicación de una dosis de 5 Mg·ha<sup>-1</sup> cubriría las necesidades de potasio de un cultivo de olivar intensivo, mientras que la dosis de 15 Mg·ha<sup>-1</sup> cubriría las necesidades tanto de fósforo como de nitrógeno. Hay que tener en cuenta que en este trabajo se presupone que todo lo aplicado será disponible para el cultivo, en cambio, a la práctica, la biodisponibilidad de nutrientes depende de las características del residuo y el suelo en que se aplica. Por lo tanto, sus datos no coinciden con los nuestros, obtenidos mediante la incubación del alperujo en el suelo, en el cual se pueden apreciar los efectos del suelo sobre la disponibilidad de los nutrientes.

En cuanto al aporte de **carbono oxidable**, en dosis de 100 Mg·ha<sup>-1</sup> o superiores, también se muestra efecto significativo y estable. Por lo que la dosis recomendada para aumentar los niveles de carbono sería la de 100 Mg·ha<sup>-1</sup>.

Uno de los efectos observados más marcados se da sobre el nitrógeno en forma de **nitratro**. Se produce una posible inmovilización del nitrato significativa para todas las dosis excepto para 5 Mg·ha<sup>-1</sup>. No obstante, esta inmovilización del nitrato se recupera al cabo de 30-90 días, para las dosis de 15 y 30 Mg·ha<sup>-1</sup>. En contraste, hacen falta 90 días para que se empiece a ver recuperación en la dosis de 100 Mg·ha<sup>-1</sup>. Por lo tanto, se recomienda aplicar una dosis de 30 Mg·ha<sup>-1</sup> para aplicar las cantidades requeridas de nitrato con un período de inmovilización viable. Debido a que las dosis de 15 y 30 Mg·ha<sup>-1</sup> producirían una inmovilización de nitrógeno de 30-90 días, éste estaría disponible cuando el cultivo requiere la mayor cantidad de nitrógeno (abril, Figura 18) si se aplica según se produce (noviembre-enero).

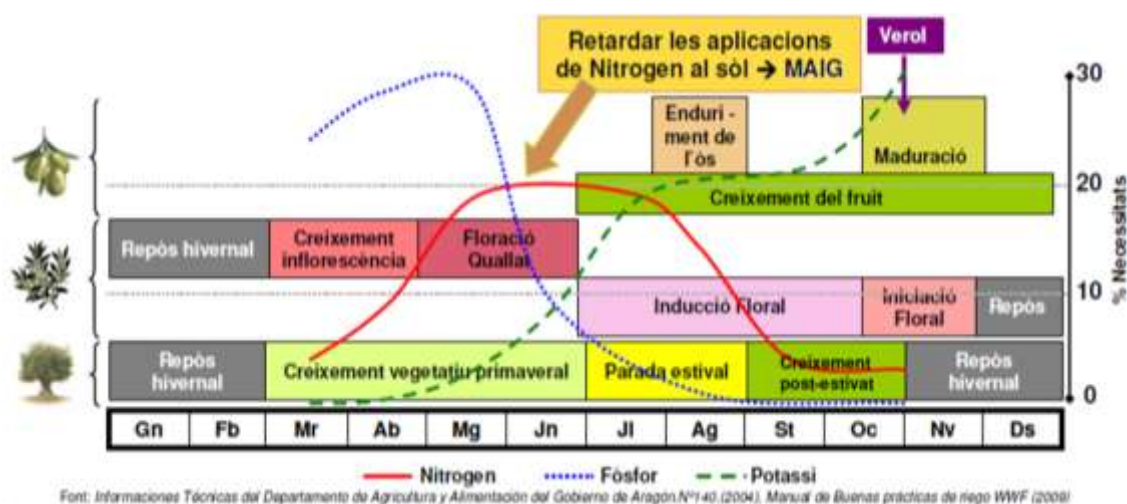


Figura 18. Requerimientos de nitrógeno (rojo), fósforo (azul) y potasio (verde) en un cultivo de olivo según la etapa biológica de éste. Fuente: GESFER (2011).

Por otro lado, este tipo de residuo estimula la actividad **deshidrogenasa** a dosis superiores a  $15 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  y la actividad **ureasa** a dosis superiores a  $5 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . No obstante, en dosis iguales o superiores a  $100\text{-}250 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  sí se aprecia una cierta inhibición en ambas actividades biológicas que podría acabar recuperándose con el paso del tiempo. En su caso, la **respirometría** no presenta inhibición. Por lo tanto, se recomienda no superar una dosis de  $100 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  para que no se produzca una inhibición de las enzimas de forma prolongada.

No obstante, hay un gran aporte de fenoles con la aplicación de alperujo. Al ser biodegradables, se recomienda el uso de alperujo a dosis inferiores a  $100 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  ya que a estas dosis los fenoles desaparecen en poco tiempo. Este hecho está relacionado con la **fitotoxicidad**, la cual va disminuyendo, principalmente, a medida que desaparecen los fenoles aportados por el residuo. Al cabo de 90 días la dosis de  $100 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  aún presenta una inhibición de la germinación del 16 %, por lo que se recomienda no superar esta dosis.

Teniendo en cuenta lo anterior, **se recomienda usar una dosis entre  $15$  y  $30 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$** , ya que podrían aplicarse al suelo sin efectos adversos y garantizando un aporte de potasio significativo y cubriendo las necesidades de un olivar intensivo en caso de que todo el material aportado fuera disponible. A pesar de que la dosis de  $100 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  aportaría, además, una cantidad de carbono y nitrógeno total significativa, habría riesgo de fitotoxicidad y una gran inmovilización de nitrógeno. *López-Piñeiro et al.* (2011) realizó un estudio con aplicaciones repetidas durante ocho años y recomendó no superar dosis de  $27 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  al usar este residuo como enmienda.

#### 4. CONCLUSIONES.

En este estudio de incubación de suelo con alperujo a las dosis de 0-500  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de 180 días de duración se han observado los siguientes efectos sobre la fertilidad del suelo:

- El pH no se ve afectado en suelos calcáreos.
- A pesar del aumento de salinidad, no hay riesgo de salinización a dosis inferiores a 250  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Por otro lado, en ningún caso hay riesgo de sodificación.
- Se necesita una dosis superior a 100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  para que haya un aumento significativo y estable en los valores de carbono oxidable.
- Se necesita una dosis superior a 100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  para que haya un aumento significativo y estable en los valores de nitrógeno total. En cuanto al nitrógeno en forma de nitrato, se aprecia su inmovilización a partir de una dosis de 15  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , no obstante, esta inmovilización no sería limitante hasta dosis iguales o superiores a 100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  en caso de ser aplicado en un cultivo de olivar.
- Se necesita una dosis mínima de 500  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  para que haya un aumento significativo en los valores de fósforo asimilable.
- Se necesita una dosis superior a 15  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  para que haya un aumento significativo y estable en los valores de potasio intercambiable.

En cuanto a la toxicidad del alperujo:

- La actividad deshidrogenasa se potencia por encima del control a dosis comprendidas entre 15-100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , no obstante, a dosis de 250  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  o superiores, se aprecia inhibición de esta enzima.
- La actividad ureásica se estimula por encima del control a dosis de alperujo de 5 a 100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Sin embargo, a dosis iguales o superiores a 100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  se produce inhibición.
- La respirometría no se ve afectada negativamente, aunque se aprecia una estimulación por encima del control de forma proporcional a la dosis aplicada.
- La presencia de fenoles se incrementa al aumentar la dosis de alperujo. No obstante, éstos son biodegradables y a dosis inferiores a 100  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  éstos bajan a niveles del control en 14 días.

- Los fenoles se relacionan con la **fitotoxicidad**, la cual va disminuyendo según desaparecen los fenoles. Al cabo de 90 días la germinación se va recuperando para las dosis de 5-100 Mg·ha<sup>-1</sup>.

Por lo tanto, el alperujo puede presentar fitotoxicidad e inhibición de la actividad enzimática a partir de 100 Mg·ha<sup>-1</sup> debido a su salinidad y a la presencia de fenoles. Por otro lado, su aplicación podría mejorar los niveles de potasio y nitrógeno en dosis de aplicación bajas. Por lo tanto, debido a esto y a los requerimientos nutritivos de un cultivo de olivar intensivo, se recomienda aplicar el alperujo como enmienda a una dosis anual entre 15-30 Mg·ha<sup>-1</sup>.

Se debería ampliar el estudio para analizar la fracción lipídica de este residuo y poder estudiar su posible fitotoxicidad. También se debería analizar el efecto de aplicaciones anuales repetidas y realizar un estudio de campo para analizar posibles lixiviaciones o impedimentos de entrada de los nutrientes en el cultivo.



## 5. BIBLIOGRAFÍA.

- Albuquerque, J.A.; González, J.; García, D.; Cegarra, J. 2003. *Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction*. Bioresource Technology 91:195-200
- Benitez, E.; Melgar, R.; Sainz, H.; Gómez, M.; Nogales, R. 2000. *Enzymes activities in rhizosphere of pepper (Capsicum annuum L.) grown with olive cake mulches*. Soil Biology & Biochemistry 32:1829–1835
- Box, J.D. 1983. *Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters*. Water research 17;5:511-525.
- Centro Interamericano de Documentación e Información Agrícola (CIDIA). 1985. *Compendio de agronomía tropical*. Volumen 1. Editorial: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) y Ministerio de Relaciones Exteriores de Francia. Capítulo 10, Suelos:419-422
- Consorcio de Gestión de la Fertilización Agraria de Catalunya (GESFER). 2011. *Pla per la millora de la fertilització agrària del Baix Ebre i Montsià, full informatiu*. Olivera 3:1-2
- Departament de la presidència (1994). *DECRET 290/1994, de 29 de setembre, sobre normes addicionals d'autorització d'almàsseres*. Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya. Núm. 1973 de 19 de novembre de 1994
- Departamento de la presidencia (1981). *REAL DECRETO 3499/1981, de 4 de diciembre, sobre medidas para evitar en la cuenca del río Guadalquivir la contaminación de las aguas por residuos de las fábricas almazaras*. «BOE» núm. 38, de 13 de febrero de 1982
- Departament de Medi Ambient. 2002. *Prevenió de la contaminació en la producció d'oli d'oliva*. Manuals d'ecogestió, 8. Generalitat de Catalunya
- EPA (1971). *Nitrogen, nitrate (Colorimetric, Brucine); EPA Method 352.1*. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.
- FAO-UNESCO. 1998. *World reference base for soil resources*. FAO, Rome.
- García C.; Gil, F.; Hernández, T.; Trasar, C. (ed). 2003. *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: Medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana*. Mundi-Prensa: Madrid, Barcelona, México. 129; 135-140; 217-219.
- Gremi d'industrials oliars de Catalunya. *Cultivo*. <http://www.gio.cat/es/cultivo> Fecha del último acceso: 17/06/2015

- Hammann, A.; Filipin, A.J.; Pozzi, M.T. 2011. *Determinación de Ecotoxicidad del alperujo mediante bioensayos de germinación y crecimiento de Lactuca sativa*. Huayllu-Bios 5:31-32
- Henríquez, C.; Uribe, L.; Valenciano, A.; Nogales, R. 2014. *Actividad enzimática del suelo- Deshidrogenasa,  $\beta$ -Glucosidasa, fosfatasa y ureasa- bajo diferentes cultivos*. Agronomía Costarricense 38:43-54
- IDESCAT. *Censo agrario y encuesta sobre la estructura de las explotaciones agrarias 2009*. <http://www.idescat.cat/pub/?id=censag> Fecha del último acceso: 15/06/2015
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 2005. *Procedimientos analíticos para suelos normales y salinos. Técnicas utilizadas en el laboratorio de suelos y agua*. Capítulo 6.9. Pasta de suelos, extracto acuoso, conductividad y por ciento de saturación:17-18
- International Olive Council. *World Olive Oil Figures*. <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures> Fecha del último acceso: 17/06/2015
- Kavdir, Y; Killi, D. 2008. *Influence of olive oil solid waste applications on soil pH, electrical conductivity, soil nitrogen transformations, carbon content and aggregate stability*. Bioresource Technology 99:2326-2332
- López-Piñeiro, A.; Albarrán, A.; Rato, J.M.; Peña, D.; Cabrera, D. 2011. *Long-term impacts of de-oiled two-phase olive mill waste on soil chemical properties, enzyme activities and productivity in a olive grove*. Soil and Tillage Research 114:175-182
- Martí, E.; Sierra, J.; Cáliz, J.; Montserrat, G.; Vila, X.; Garau, M.A.; Cruañas, R. 2013. *Ecotoxicity of Cr, Cd, and Pb on two mediterranean soils*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 64:377-387
- Martín, J.; Sampedro, I.; García-Romera, I.; García-Garrido, J.M.; Ocampo, J.A.; 2002. *Arbuscular mycorrhizal colonization and growth of soybean (Glycine max) and lettuce (Lactuca sativa) and phytotoxic effects of olive mill residues*. Biology Biochemistry 34:1769–1775
- Ministerio de la Presidencia. 2013. *Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes*. «BOE» núm. 164, de 10 de julio de 2013
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2003. *Guidelines for the testing of chemicals*. Proposal for updating guideline 208. Terrestrial plant test: 208. Seedling emergence and seedling growth test. Draft document

- Page, A. L. (ed). 1982. *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy Inc. 827-871
- Roig, A.; Cayuela, M.L.; Sánchez-Monedero, M.A. 2005. *An overview on olive mill wastes and their valorisation methods*. Waste Management 26:960-969
- Sampedro, I.; Giubilei, M.; Cajthaml, T.; Federici, E.; Federici, F.; Petruccioli, M.; D'annibale, A. 2009. *Short-term impact of dry olive mill residue addition to soil on the resident microbiota*. Bioresource Technology 100:6098-6106
- Sierra, J. 2003. *Aplicació d'oliassa al sòl: aspectos ambientals i agrològics*. Tesis doctoral. Facultat de Farmacia. Universidad de Barcelona
- Sierra, J.; Martí, E.; Montserrat, G.; Cruaños, R.; Garau, M.A. 2001. *Characterisation and evolution of a soil affected by olive mill wastewater disposal*. The Science of the Total Environment 279:207-214
- Sierra, J.; Martí, E.; Garau, M.A.; Cruaños, R. 2007. *Effects of the agronomic use of olive oil mill wastewater: field experiment*. Science of the Total Environment 378:90–94
- United States Department of Agriculture (USDA). *Soil Texture Calculator*. [http://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/?cid=nrcs142p2\\_054167](http://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/?cid=nrcs142p2_054167) Fecha del último acceso: 29/06/2015
- United States Salinity Laboratory Staff (USSL). 1954. *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Handbook 60*; United States Department of Agriculture
- Vázquez, B.R.; García, A.; García, B. *Relación entre compuestos fenólicos y calidad nutritiva en especies pratenses*. En: Reiné, R.; Barrantes, O.; Broca, A.; Ferrer, C. 2009. *La multifuncionalidad de los pastos: producción ganadera sostenible y gestión de los ecosistemas*. Editorial: Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, 283-278
- Wolinska, A.; Stepniewska, Z. 2012. *Dehydrogenase activity in the soil environment*. En: Canuto, R.A. (ed). *Dehydrogenases*. INTECH. DOI: 10.5772/48294

## ANEXO I

Análisis de correlación de Pearson/Spearman entre las diferentes variables estudiadas.

		pH	CE	potasio	sodio	Coxidable	NTK	N_nitratos	fenoles	fosforo	ureasa	amonio	DHA	IG_rabano	IG_lechuga
Correlación de Pearson	pH	1	-,430**	-,163*	,062	-,204**	-,023	,015	-,413**	,293**	,297**	-,268**	,449**	,518**	,083
	CE		1	,885**	,668**	,891**	,792**	-,327**	,976**	,079	-,790**	-,173*	-,579**	-,731**	-,785**
	potasio			1	,909**	,943**	,944**	-,450**	,827**	,357**	-,835**	-,317**	-,430**	-,735**	-,923**
	sodio				1	,813**	,904**	-,350**	,578**	,644**	-,681**	-,386**	-,356**	-,593**	-,836**
	Coxidable					1	,849**	-,408**	,858**	,263**	-,861**	-,348**	-,408**	-,642**	-,875**
	NTK						1	-,446**	,741**	,427**	-,693**	-,306**	-,374**	-,676**	-,945**
	N_nitratos							1	-,328**	,229**	,511**	-,114	-,119	,335**	,324**
	fenoles								1	-,011	-,734**	-,150	-,527**	-,659**	-,741**
	fosforo									1	-,089	-,286**	-,093	-,278*	-,489**
	ureasa										1	,183*	,385**	,612**	,731**
	amonio											1	,179*	,095	,339**
	DHA												1	,497**	,365**
	IG_rabano													1	,666**
	IG_lechuga														1

\*\*. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

\*. La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

## ANEXO II

Resumen de los resultados obtenidos mediante el test de Duncan para el valor medio de cada parámetro ( $p$ -valor $<0,05$ ).

Tabla 1. Valores medios de *pH* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo.

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	7,42d	7,44d	7,38b	7,35a	7,31a	7,45a
5	7,43d	7,42d	7,36b	7,45a	7,27a	7,44a
15	7,44d	7,55e	7,52c	7,45a	7,36ab	7,52a
30	6,94b	7,57e	7,56c	7,46a	7,34ab	7,45a
100	7,13c	7,18b	7,47bc	7,73b	7,43b	7,47a
250	6,90a	7,05a	7,09a	7,55a	7,62c	7,82b
500	6,91a	7,27c	7,01a	7,49a	7,36ab	7,87b

Tabla 2. Valores medios de *CE* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ .

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	0,213b	0,178b	0,162a	0,188a	0,179d	0,198a
5	0,181a	0,155ab	0,148a	0,166a	0,171cd	0,201a
15	0,224d	0,136a	0,118a	0,137a	0,155b	0,186a
30	0,219c	0,143a	0,123a	0,141a	0,163bc	0,202a
100	0,332e	0,226c	0,165a	0,190a	0,139a	0,187a
250	0,658f	0,555d	0,449b	0,419b	0,256e	0,242b
500	1,183g	1,264e	1,191c	0,981c	0,530f	0,576c

Tabla 3. Valores medios de *Carbono oxidable* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en porcentaje.

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	2,11a	1,79a	2,04a	1,83ab	2,26a	2,18a
5	2,18a	2,12a	2,1a	1,76a	2,22a	2,32a
15	2,16a	2,02a	2,14a	2,02ab	2,45a	2,30a
30	2,27a	2,16ab	2,98a	2,14b	2,35a	2,31a
100	2,88b	2,85b	2,57b	2,69c	3,11a	2,78b
250	5,84c	6,63c	7,05c	8,46d	7,98b	6,64c
500	11,09d	11,76d	11,15d	10,54e	9,29b	7,49d

Tabla 4. Valores medios de *NTK* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en porcentaje.

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	0,30a	0,34a	0,30a	0,30a	0,30a	0,30c
5	0,30a	0,34a	0,31c	0,32b	0,30b	0,29b
15	0,31a	0,35a	0,31b	0,33c	0,31c	0,30c
30	0,31a	0,35a	0,33d	0,34d	0,32d	0,28a
100	0,33b	0,34a	0,34e	0,35e	0,39e	0,38f
250	0,38c	0,35a	0,38f	0,38f	0,44f	0,35e
500	0,60d	0,59b	0,59g	0,64g	0,67g	0,64g

Tabla 5. Valores medios de  $N-NO_3^-$  según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en  $mg \cdot kg^{-1}$ .

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	23,34d	76,25g	102,45f	96,28g	269,16f	242,74g
5	18,24c	63,15f	85,43e	84,95f	222,87e	235,06f
15	32,47g	36,54d	23,64d	33,89e	161,55c	213,83e
30	16,17b	25,12b	19,55c	18,43b	170,26d	205,45d
100	14,81a	27,62c	16,40b	19,39c	17,14b	17,71c
250	29,07f	42,68e	16,39b	32,33d	6,61a	7,07a
500	25,57e	9,31a	6,82a	6,5a	17,17b	14,52b

Tabla 6. Valores medios de *Actividad Ureasa* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en  $\mu mol NH_4^+ \cdot g^{-1} h^{-1}$ .

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	0,154f	0,162d	0,155d	0,147d	0,169b	0,169e
5	0,145e	0,183e	0,180e	0,176e	0,187c	0,217g
15	0,111d	0,207g	0,201f	0,194f	0,219d	0,159d
30	0,167g	0,198f	0,197f	0,197g	0,220d	0,192f
100	0,088c	0,071c	0,093c	0,110c	0,168b	0,148c
250	0,019b	0,017b	0,028b	0,039b	0,042a	0,075b
500	0,009a	0,005a	0,003a	0,000a	0,043a	0,67a

Tabla 7. Valores medios de *Amonio* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	2,691d	0,188ab	0,278 acb	0,754c	0,492b	0,945c
5	1,953c	0,808bc	0,285bc	0,942c	0,750c	0,127ab
15	1,428b	1,216cd	0,165a	0,802c	0,943d	0,132ab
30	1,117a	0,618b	0,179ab	1,209d	0,463b	0,132ab
100	1,148a	1,537d	0,559d	0,500b	0,441b	0,315b
250	1,042a	0,253ab	0,327c	0,000a	0,000a	0,000a
500	1,397b	0,024a	0,167a	0,000a	0,067a	0,000a

Tabla 8. Valores medios de *Potasio* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	770a	878a	762a	695a	628a	707a
5	818a	935b	780a	708b	636a	749a
15	910b	1047c	828a	776c	700a	885b
30	1143c	1098d	913a	806d	724a	998b
100	1642d	1652e	1397b	1442e	1486b	1474c
250	2898e	2995f	2576c	2610f	2647c	3085d
500	5623f	5622g	5239d	5623g	6006d	5259e

Tabla 9. Valores medios de *Sodio* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	29,11a	32,53a	37,00a	44,42a	40,28ab	39,48a
5	29,52a	31,59a	37,50a	46,94a	39,4a	44,10b
15	30,11a	32,92a	39,50a	49,59a	42,76ab	44,88
30	36,98b	33,28a	38,00a	50,66a	46,32b	43,16ab
100	52,65c	58,62b	48,50b	65,40b	62,31c	58,42c
250	67,38d	83,39c	71,43c	115,69c	90,05d	105,02d
500	139,28e	141,01d	120,00d	142,21d	237,45e	236,12e

Tabla 10. Valores medios de *Actividad Deshidrogenasa* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en  $\mu\text{mol INTF}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ .

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	0,025ef	0,018b	0,013c	0,011b	0,010b	0,010b
5	0,023e	0,020bc	0,015d	0,013c	0,012b	0,011b
15	0,196d	0,024bc	0,018e	0,017d	0,016c	0,014c
30	0,029f	0,024bc	0,020f	0,021f	0,021d	0,019d
100	0,015c	0,026c	0,015cd	0,020e	0,026e	0,029e
250	0,001a	0,003a	0,003b	0,017d	0,031f	0,043f
500	0,007b	0,003a	0,000a	0,003a	0,005a	0,007a

Tabla 11. Valores medios de *Fósforo asimilable* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	196a	36a	144b	380a	528ab	531a
5	207ab	36a	138b	380a	525ab	465a
15	197a	46a	117ab	387a	575b	569a
30	225ab	44a	120ab	360a	603bc	568a
100	235bc	38a	126ab	367a	432a	510a
250	258c	47a	131ab	525c	485ab	581a
500	430d	145b	101a	435b	701c	753b

Tabla 12. Valores medios de *Fenoles Solubles* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. El resultado se expresa en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Tiempo Dosis	0	8	14	30	90	180
0	2,42a	2,39a	3,18a	3,56a	2,76a	1,95a
5	5,96a	3,54a	4,22a	2,73a	2,34a	1,97a
15	18,95a	7,10b	5,66a	9,26a	7,31a	5,36ab
30	35,95a	8,69b	9,08a	11,85a	10,15a	8,45ab
100	118,90b	44,66c	50,02a	46,47a	33,61b	20,75ab
250	384,92c	315,32d	246,22b	308,05b	94,31c	26,90b
500	1211,23d	1099,52e	987,82c	890,12c	196,19d	205,22c



Tabla 13. Valores medios del *Índice de Germinación* según la dosis y el tiempo de incubación. Letras distintas para cada columna indican diferencias significativas entre las dosis para cada tiempo. Se representa tanto la germinación para el rábano (a) como para la lechuga (b). El resultado se expresa en Tanto por ciento.

Tiempo Dosis	0	30	90
0	100f	100c	100f
5	88e	100c	90e
15	84d	48a	84d
30	81b	100c	93d
100	82c	100c	72c
250	0a	100c	67b
500	0a	58b	22a

a)

Tiempo Dosis	0	30	90
0	100e	100b	100d
5	100e	100b	100d
15	96c	100b	100d
30	100e	100b	99c
100	99d	100b	100d
250	84b	100b	23b
500	0a	0a	0a

b)